

KARAKTERISTIK ^{188}Re - HIDROKSIAPATIT UNTUK SINOVEKTOMI RADIASI

Duyeh Setiawan^{a*} & Iwan Hastiawan^b

^aPusat Sains Dan Teknologi Nuklir Terapan - Badan Tenaga Nuklir Nasional

Jl.Tamansari No. 71 Bandung 40132, Jawa Barat - Indonesia

^bDepartemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang km. 21 Jatinangor, Sumedang 45363, Jawa Barat - Indonesia

*Alamat korespondensi: d_setiawan@batan.go.id

Abstrak: Sinovektomi radiasi adalah cara alternatif yang efektif dari sinovektomi bedah untuk terapi radang sendi atau *rheumatoid arthritis*. Kerugian utama sinovektomi radiasi adalah kebocoran radioaktivitas dari sendi yang diperlakukannya. Beberapa cara untuk meminimalisasi kebocoran radioaktivitas diantaranya adalah memilih radioisotop dengan waktu paruh pendek, menggunakan partikel pembawa radioaktif dengan ukuran yang sesuai. Karakteristik hasil penandaan hidroksiapatit (HAp) dengan radioisotop ^{188}Re menggunakan stano klorida dan natrium oksalat, serta biodistribusi pada tikus normal merupakan tujuan penelitian ini. Prosedur penandaan hidroksiapatit dengan ^{188}Re telah berhasil didapatkan kondisi optimum menggunakan 40 mg HAp, pH 1, 4 mg stano klorida, 1 mg natrium oksalat dan waktu inkubasi selama 45 menit dalam suhu kamar. ^{188}Re -HAp mempunyai sifat larutan koloid berwarna putih, stabil mempertahankan kemurnian radiokimia sebesar 95% setelah 4 hari bila disimpan dalam larutan asam askorbat (10 mg/mL, pH 5). Injeksi intra-artikular pada tikus jenis wistar normal menunjukkan akumulasi sebesar 96,43% dari ^{188}Re -HAp di persendian setelah penyuntikan 24 jam dengan total kumulatif kebocoran radioaktivitas adalah 3,75%.

Kata kunci: ^{188}Re -hidroksiapatit, terapi, sinovektomi radiasi, radang sendi

Abstract: Radiation synovectomy is an effective alternative to surgical synovectomy for the rheumatoid arthritis therapy. The main disadvantage of radiation synovectomy is leakage of radioactivity from the treated joints. Several ways to minimize the radioactivity leakage are choosing a radioisotope with a short half-life, using radioactive particles carrier of an appropriate size. The characteristics result of labeling hydroxyapatite (HAp) with ^{188}Re radioisotope using stano chloride and sodium oxalate, and its biodistribution in normal rats are the aim of this research. The optimum condition procedure for labeling hydroxyapatite with ^{188}Re has successfully obtained. The condition is 40 mg HAp, pH 1, 4 mg stano chloride, 1 mg sodium oxalate and incubation time for 45 minutes at the room temperature. ^{188}Re -HAp is a colloidal solution with the following characteristics: having white color and stable retaining its 95% radiochemical purity after 4 days when stored in ascorbic acid solution (10 mg/mL, pH 5). Intra-articular injection in normal rats revealed is 96.43% accumulation of ^{188}Re -HAp in the knee after 24 hours post injection with the cumulative radioactivity total leakage was 3.75%.

Keywords: ^{188}Re -hydroxyapatite, therapy, radiation synovectomy, rheumatoid arthritis

PENDAHULUAN

Radioisotop dapat dimodifikasi menjadi berbagai jenis sediaan senyawa bertanda untuk aplikasi radioterapi *rheumatoid arthritis* dengan cara sinovektomi radiasi (Chakraborty *et al.*, 2006; Lambert & de Klerk, 2006; Sankha *et al.*, 2008). Senyawa bertanda radioaktif untuk sinovektomi radiasi dapat dijadikan sebagai alternatif yang efektif dari cara sinovektomi bedah. Cara sinovektomi radiasi melibatkan prosedur injeksi intra-artikular pancaran sinar beta bersama-sama sediaan radiofarmasi untuk melawan dan mengendalikan peradangan sendi (Kothari *et al.*, 2003; Schneider *et al.*, 2005; Shamim *et al.*, 2010). Kerugian utama sinovektomi radiasi adalah kebocoran radioaktivitas dari persendian (Ong *et al.*, 2008). Beberapa cara untuk memperkecil kebocoran radioaktivitas sinovektomi radiasi pada waktu memperlakukan persendian adalah pemilihan radioisotop dengan waktu paruh pendek dan menggunakan partikel

pembawa radioaktif dengan ukuran yang sesuai, serta immobilitas dari perlakuan persendian selama dan setelah injeksi (Shin *et al.*, 2007).

Dengan demikian, kemungkinan untuk mengatasi masalah kebocoran radiasi dapat menggunakan radioisotop/radionuklida berumur pendek dan partikel pembawa yang relatif besar. Oleh karena energi yang tinggi dari pancaran beta ^{32}P dan ^{90}Y , maka dua radionuklida ini banyak digunakan dalam radioterapi dengan cara sinovektomi radiasi (Pandey *et al.*, 2001). Akan tetapi, kelemahan radionuklida ^{32}P dengan waktu paruh 14 hari bisa menimbulkan bahaya radiasi dosis tinggi dalam hal terjadi kebocoran radiasi dari persendian. Sedangkan ketersediaan ^{90}Y dengan aktivitas spesifik yang tinggi sulit diperoleh melalui aktivasi neutron, karena ^{89}Y sebagai target mempunyai penampang lintang rendah. Meskipun ^{90}Y dapat diperoleh dari sistem generator $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ dengan aktivitas spesifik tinggi, namun pemisahan ^{90}Y dari ^{90}Sr melibatkan pekerjaan

yang tidak mungkin dilakukan di rumah sakit (Venkatesh *et al.*, 2001).

Radioisotop ^{188}Re dengan waktu paruh relatif pendek sebesar 16,9 jam merupakan radioisotop bebas pengemban dan juga tersedia dari sistem generator di rumah sakit yang mirip dengan generator $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$. Waktu paruh yang panjang dari radioisotop induk ^{188}W sebesar 69 hari memberikan sistem generator dengan pelayanan panjang dan menghasilkan produksi ^{188}Re secara ekonomis (Setiawan, 2002). ^{188}Re akan stabil untuk terapi persendian lutut dengan penetrasi kedalam jaringan antara 3,8 mm – 11 mm. Juga pancaran gamma dengan energi 155 keV memungkinkan untuk evaluasi kebocoran radiasi dengan menggunakan kamera pencitraan gamma, serta membantu dalam studi dosimetri radiasi. Di masa lalu, ^{188}Re -mikrosfer dan ^{188}Re -sulfur koloid telah dieksplorasi sebagai sediaan potensial untuk sinovektomi radiasi. Kebocoran radioaktivitas dilaporkan dengan ^{188}Re -sulfur koloid sebesar 13% serta ^{188}Re -mikrosfer 7% masing-masing setelah 48 jam (Wang *et al.*, 2001, Eduardo *et al.*, 2004).

Hidroksiapatit (HAp) adalah komponen utama dari matriks tulang rangka dan telah terbukti *biodegradable* dalam studi model hewan (Ong *et al.*, 2008). Hal ini dapat mudah ditandai dengan berbagai ion logam lantanida (Unni *et al.*, 2002). Pada penelitian ini akan dilakukan penandaan langsung hidroksiapatit dengan ^{188}Re menggunakan Sn^{2+} dan ion oksalat serta uji biodistribusi pada tikus normal secara injeksi intra-artikular.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan kimia yang digunakan hidroksiapatit (PTNBR- BATAN), tungsten oksida (Fluka 95410), ammonium perenat (Aldrich 13598-65-7), natrium wolframat (E.Merck 106673), ammonium hidroksida (E.Merck 105432), asam klorida (E.Merck 1003161000), normal salin (Ipha), aquabides (Ipha), hidroksi apatit standar (Aldrich 289396-25G). Alat gelas yang digunakan yaitu gelas piala, labu erlenmeyer, labu ukur, gelas ukur, tabung sentrifugasi, pipet volum, pipet tetes, corong saring, corong buchner, termometer, kaca arloji, dan alat-alat gelas kimia yang biasa digunakan di laboratorium. Sedangkan instrumentasi yang digunakan dalam melakukan penelitian ini antara lain, reactor serba guna Siwabessy BATAN-Serpong untuk keperluan iradiasi, neraca analitik Ainsworth 24 N, pipet mikro (Eppendorf) 100 μL dan 5 μL , syring 1 mL; 3 mL (Terumo), pH meter digital, kertas pH universal (E.Merck), vial 10 mL (Igar), inner + outer kapsul (Nuclear grade), gelas kuarsa 12 mm x 75 mm (Ex ficor USA), magnetic stirrer (ThermolyneNouva II), oven, penganalisis multi saluran (MCA) Canberra 3000 volt dengan detektor germanium kemurnian tinggi, dan alat pencacah Geiger Muller (GM Counter) Ortec.

Metode

Penandaan ^{188}Re – Hidroksiapatit.

Penandaan ^{188}Re -HAp dibagi menjadi beberapa kelompok. Kelompok 1: Sebanyak 6 buah vial untuk variasi pH, masing-masing mengandung hidroksiapatit (HAp), 40 mg. Setiap vial ditambahkan berturut-turut 10 mg natrium oksalat, 10 mg stanoklorida, 0,3 mL aquades dan $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4 \approx 8 - 18 \mu\text{Ci}/0,5 \text{ mL}$. pH dari setiap campuran dibuat variasi mulai 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 dengan cara penambahan HCl 2 M. Kelompok 2: Sebanyak 5 buah vial untuk variasi stano klorida (2, 4, 6, 8 dan 10 mg). Kelompok 3: Sebanyak 6 buah vial untuk variasi natrium oksalat (0, 1, 2, 3, 4 dan 5 mg). Kelompok 4: Sebanyak 5 buah vial untuk variasi hidroksiapatit (30, 35, 40 dan 50 mg). Kelompok 5: Sebanyak 4 buah vial untuk variasi waktu inkubasi (15, 30, 45 dan 60 menit). Kemudian masing-masing kelompok 1 – 5, merupakan campuran berupa suspensi divortex selama 30 detik, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama satu jam. Kemudian ditambahkan 1 mL asam askorbat (10 mg/mL, pH 5), selanjutnya disentrifugasi pada 2000 rpm selama 2 menit. Supernatan dipisahkan dan endapan dicuci dengan 2 mL asam askorbat sebanyak dua kali. Endapan ^{188}Re -HAp ditambah 2 mL asam askorbat, selanjutnya endapan dan supernatan diukur dengan *single channel analyzer* (Voltage 800 V, window 0,6, lower level 1,6) selama 4 detik masing-masing tiga kali pengukuran.

Penentuan stabilitas ^{188}Re -Hidroksiapatit.

^{188}Re -HAp ditentukan melalui uji kestabilan dalam larutan NaCl 0,9% dan asam askorbat (10 mg/mL, pH 5) selama 4 hari. Partikel ^{188}Re -HAp ditambah 1 mL larutan NaCl 0,9%, kemudian divortex selama 30 detik, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 45 menit. Campuran berupa suspensi tersebut disentrifugasi pada 2000 rpm selama dua menit, supernatan diukur untuk setiap radioaktivitas yang keluar dari partikel HAp. Prosedur diulangi, yaitu partikel ^{188}Re -HAp ditambah 1 mL asam askorbat (10 mg/mL, pH 5).

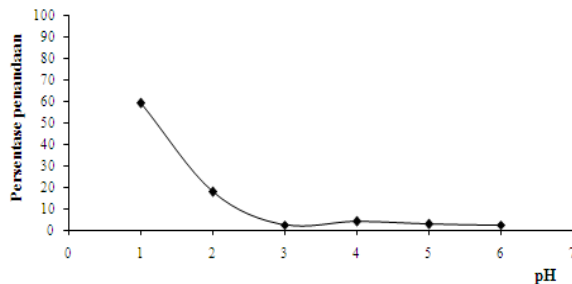
Studi kebocoran radioaktivitas (ekstra-artikular) ^{188}Re -HAp

Tikus wistar digunakan untuk mengevaluasi keberadaan ^{188}Re -HAp disetiap organ. Tikus dewasa dengan berat 400-600 g dibius dan salah satu persendian (lutut) dibersihkan bulu-bulunya dengan cara dicukur untuk daerah penyuntikan. Sebanyak 200 μL larutan ^{188}Re -HAp (19 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$) disuntikan secara *intra-articular*, selanjutnya tikus disimpan di kandang selama 24 jam. Setiap organ dan persendian daerah penyuntikan diambil untuk ditentukan penimbunan aktivitas radioaktifnya. Selanjutnya dihitung persen penimbunan per gram organ.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi ^{188}Re -Hidroksiapatit

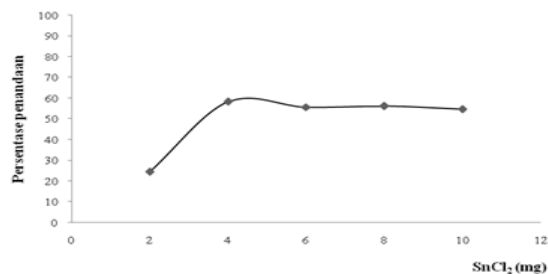
Sediaan ^{188}Re -HAp dapat disiapkan dengan prosedur yang dioptimalkan melalui pengontrolan terhadap parameter-parameter yang berpengaruh. Proses penandaan dapat dicapai hanya dalam lingkungan media yang asam (Kothari *et al.*, 2003). Hasil percobaan pengaruh pH terhadap penandaan ^{188}Re -HAp ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Efek pH pada penandaan ^{188}Re -HAp

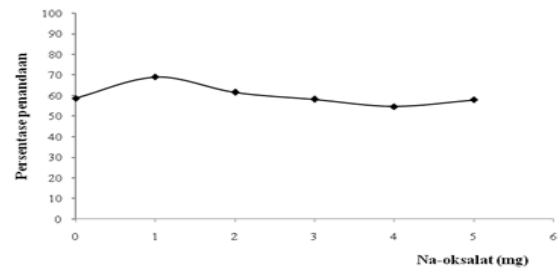
Gambar 1 menunjukkan bahwa persentase penandaan tertinggi dapat dicapai pada pH 1. Stanoklorida (SnCl_2) digunakan sebagai pereduksi dan jumlah stanoklorida yang digunakan dalam reaksi ditentukan oleh hasil penandaan.

Pengaruh konsentrasi stano klorida terhadap hasil penandaan telah dilakukan pada kondisi pH 1, hasil percobaan ditunjukkan pada Gambar 2.



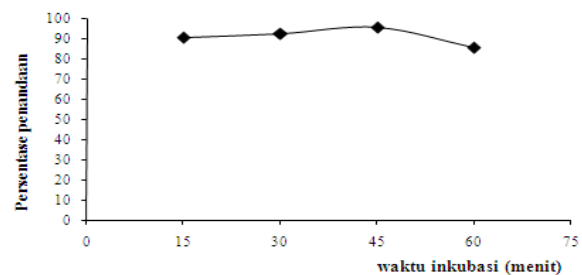
Gambar 2. Efek SnCl_2 pada penandaan ^{188}Re -HAp

Gambar 2 menunjukkan bahwa jumlah optimum stanoklorida (SnCl_2) untuk reduksi yang diperlukan dalam proses penandaan ^{188}Re -HAp sebesar 4 mg. Dalam penelitian ini, telah dilakukan menerapkan prosedur tersebut untuk meningkatkan efisiensi penandaan ^{188}Re -HAp. Penandaan yang dilakukan dalam kondisi ketiadaan (tanpa) dan keberadaan natrium oksalat. Hasil penandaan seperti ditunjukkan pada Gambar 3.



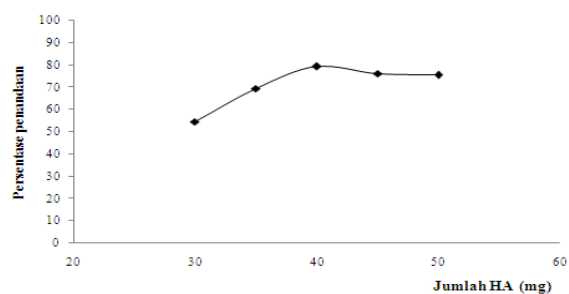
Gambar 3. Efek Na-oksalat pada penandaan ^{188}Re -HAp

Gambar 3 menunjukkan bahwa hasil penandaan tertinggi diperoleh dengan penambahan 1 mg natrium oksalat, sedangkan hasil penandaan ketiadaan (tanpa) natrium oksalat menunjukkan hasil lebih kecil. Hasil pengamatan bahwa tidak adanya natrium oksalat, partikel HAp terlarut seluruhnya pada waktu penandaan dilakukan dalam lingkungan pH 1. Penandaan ^{188}Re -HAp dikontrol terhadap variasi waktu inkubasi dan diperoleh hasil kondisi optimum seperti pada Gambar 4.



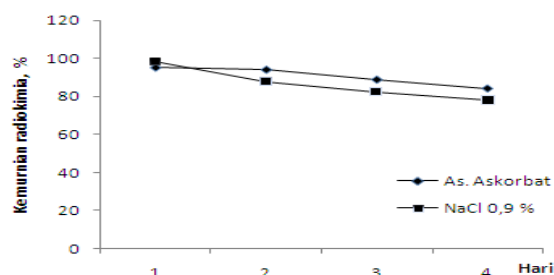
Gambar 4. Efek waktu inkubasi pada penandaan ^{188}Re -HAp

Gambar 4 menunjukkan bahwa persen penandaan ^{188}Re -HAp tertinggi setelah inkubasi mencapai optimum 45 menit. Ketepatan penggunaan jumlah Hap pada proses penandaan ^{188}Re -HAp memberikan kontribusi yang lengkap dalam pengadaan radiofarmaka untuk terapi *rheumatoid arthritis*. Hasil percobaan pada penandaan ^{188}Re -HAp terhadap efek jumlah Hap seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Efek jumlah Hap pada penandaan ^{188}Re -HAp

Gambar 5 menunjukkan bahwa kondisi reaksi yang digunakan untuk pembentukan senyawa bertanda ^{188}Re -HAp diperlukan 40 mg hidroksiapatit. Percobaan dengan metode langsung menggunakan stano klorida dan ion oksalat telah menunjukkan bahwa senyawa bertanda ^{188}Re -HAp ditemukan memiliki stabilitas yang relatif baik. Hasil percobaan stabilitas ^{188}Re -HAp seperti ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Stabilitas ^{188}Re -HAp dalam NaCl 0,9% dan asam askorbat pH 5

Gambar 6 menunjukkan bahwa stabilitas ^{188}Re -HAp telah dipelajari dalam larutan NaCl 0,9% dan asam askorbat pH 5. Hasil uji stabilitas diperlihatkan memiliki kestabilan yang relatif baik dalam larutan asam askorbat (10 mg/mL, pH 5) dengan mempertahankan kemurnian radiokimia sebesar 95 % selama 4 hari.

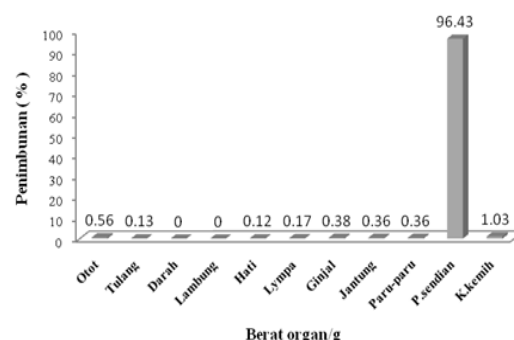
Studi kebocoran radioaktivitas (ekstra-artikular) ^{188}Re -HAp

Data hasil biodistribusi ^{188}Re -HAp secara penyuntikan intra-artikular pada tikus normal setelah 24 jam (% aktivitas injeksi/g organ, \pm SD, n = 3), seperti dirangkum dalam Tabel 1.

Tabel 1. Data hasil biodistribusi ^{188}Re -HAp pada tikus normal

| No | Organ | Penimbunan per gram organ (%) |
|----|------------|-------------------------------|
| 1 | Otot | 0,5611 \pm 0,3459 |
| 2 | Tulang | 0,1299 \pm 0,1126 |
| 3 | Darah | 0,0000 \pm 0,0000 |
| 4 | Lambung | 0,0000 \pm 0,0000 |
| 5 | Hati | 0,1219 \pm 0,2111 |
| 6 | Lympa | 0,1655 \pm 0,1435 |
| 7 | Ginjal | 0,3835 \pm 0,1607 |
| 8 | Jantung | 0,3575 \pm 0,0866 |
| 9 | Paru-paru | 0,3576 \pm 0,0129 |
| 10 | Persendian | 96,4349 \pm 0,5047 |
| 11 | K.Kemih | 1,0275 \pm 0,8908 |

Tabel 1 menunjukkan kinetika ^{188}Re -HAp dalam organ atau bagian tubuh tertentu merupakan angka-angka yang menggambarkan akumulasi ^{188}Re -HAp di dalam organ tubuh tersebut, seperti pada Gambar 7.



Gambar 7. Biodistribusi ^{188}Re -HAp cara injeksi intra-artikular pada tikus normal setelah 24 jam penyuntikan

Gambar 7 menunjukkan biodistribusi radioaktivitas ekstra-artikular dari ^{188}Re -HAp setelah injeksi ke dalam sendi lutut. Total kumulatif kebocoran pada tikus normal adalah 3,75% setelah 24 jam dan selanjutnya sebagian besar diekskresikan ke dalam urin. Kebocoran radioaktivitas yang diperoleh lebih baik dari hasil yang dilaporkan peneliti sebelumnya menggunakan senyawa ^{188}Re -sulfur (13%) atau ^{188}Re -mikrosfer (7%) (Wang *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Karakteristik ^{188}Re -HAp berupa larutan koloid, kemurnian radiokimia 95% dan stabil setelah 4 hari. Senyawa bertanda ^{188}Re -HAp dapat digunakan untuk sinovektomi radiasi dalam pengobatan radang sendi (*rheumatoid arthritis*) dengan beberapa keuntungan seperti ketersediaan ^{188}Re dari generator $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$, sifat ^{188}Re (waktu paruh 16,9 jam) dapat meminimalkan kumulatif radiasi untuk jaringan non-target, sehingga membantu dalam mengatasi masalah kebocoran radiasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada bapak/ibu/sdr M. Basit, Marlina, Nanih Kusnaeni, Nana Suherman, Titin Srimulyati sebagai staf kelompok Teknologi Proses Radioisotop yang telah bersama-sama menyelesaikan penelitian ini tanpa ada hambatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Chakraborty S., Das T., Benerjee S., Subramanian S., Sarma H.D. & Venkatesh M. (2006). ^{175}Yb -labeled hydroxyapatite: a potential agent for use in radiation synovectomy of small joint. *Nuclear Medicine and Biology*, 33(4), 585-591.
- Chattopadhyay, S., Vimalnath, K.V., Saha, S., Korde, A., Sarma, H.D., Pal, S. & Das, M.K. (2008). Preparation and evaluation of new radiopharmaceutical for radiosynovectomy, ^{111}Ag -labelled hydroxyapatite (HA) particles, *Applied Radiation and Isotopes*, 66, 334-339. doi: 10.1016/j.apradiso.2007.09.003.

- Kothari, K., Suresh, S., Sarma, H.D., Meera, V. & Pillai, M.R.A. (2003). ^{188}Re -hydroxyapatite particles for radiation synovectomy, *Applied Radiation and Isotopes*, 58, 463-468.
- Lambert, B. & de Klerk, J.M.H. (2006). Clinical applications of ^{188}Re -labelled radiopharmaceutical for radionuclide therapy, *Nuclear Medicine Communication*, 27, 223-229.
- Ong, H.T., Loo, J.S.C., Boey, F.Y.C., Russell, S.J., Ma, J. & Peng, K.-W. (2008). Exploiting the high-affinity phosphonate-hydroxyapatite nanoparticle interaction for delivery of radiation and drugs, *Journal of Nanoparticle Research*, 10(1), 141-150.
- Pandey, U., Mukherjee, A., Choudhary, P.R., Pillai, M.R.A. & Venkatesh, M. (2001). Preparation and studies with ^{90}Y -labelled particles for use in radiation synovectomy, *Applied Radiation and Isotopes*, 55, 471-475.
- Savio, E., Ures, M.C., Zeledón, P., Trindade, V., Paolino, A., Mockford, V., Malanga, A., Fernández, M. & Gaudiano, J. (2004). ^{188}Re radiopharmaceuticals for radiosynovectomy: evaluation and comparison of tin colloid, hydroxyapatite and tin-ferric hydroxide macroaggregates, *BMC Nuclear Medicine*, 4, 1. doi:10.1186/1471-2385-4-1.
- Scheider, P., Farahati, J. & Reiners, C. (2005). Radiosynovectomy in rheumatology, orthopedics, and hemophilia, *Journal of Nuclear Medicine*, 46(1), 48-54.
- Setiawan, D. (2002). Pembuatan dan karakterisasi gel logam tungstat sebagai matriks generator ^{188}W - ^{188}Re untuk produksi radioisotop ^{188}Re . Prosiding Pertemuan dan Presentasi ilmiah Penellltan Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir P3TM-BATAN Yogyakarta, 27 Juni 2002.
- Shamim, S.A., Kumar, R., Halanaik, D., Kumar, A., Shandal, V., Shukla, J., Kumar, A., Trikha, V., Chandra, P., Bandopadhyaya, G. & Malhotra, A. (2010). Role of rhenium-188 tin colloid radiosynovectomy in patients with inflammatory knee joint conditions refractory to conventional therapy, *Nuclear Medicine Communication*, 31, 814-820.
- Shin, K., Lee, J.C., Choi, H.J., Son, M., Lee, Y.J., Lee, E.B., Hong, S.H. & Song, Y.W. (2007). Radiation synovectomy using ^{188}Re -tin colloid improves knee synovitis as shown by MRI in refractory rheumatoid arthritis, *Nuclear Medicine Communication*, 28, 239-244.
- Unni, P.R., Chaudhari, P.R., Venkatesh, M., Ramamoorthy, N. & Pillai M.R.A. (2002). Preparation and bioevaluation of ^{166}Ho labeled hydroxyapatite particle for radiosynovectomy, *Nuclear Medicine and Biology*, 29, 199-209.
- Venkatesh, M., Pandey, U., Dharmi, P.S., Kannan, R., Achuthan, P.V., Chitnis, R.R., Gopalakrishnan, V., Bonerjee, S., Samuel, G., Pillai, M.R.A. & Ramanujam, A. (2001). Complexation studies with ^{90}Y from a novel ^{90}Sr - ^{90}Y generator, *Radiochimica Acta*, 89, 413-417.
- Wang, S.J., Lin, W.Y., Chen, M.N., Chen, J.T., Ho, W.L., Hsieh, B.T., Huang, H., Shen, L.H., Ting, G. & Knapp, F.F.Jr. (2001). Histologis study of effects of radiation synovectomy with rhenium-188 microspheres, *Nuclear Medicine and Biology*, 28, 727-732.